

Radiofármacos: Perspectivas actuales

José Luis Moreno Frigols

Departamento de Química Física. Facultad de Farmacia. Universidad de Valencia. Spain.

Recibido el 14 de diciembre de 2011.

e-mail: jose.l.moreno@uv.es

RESUMEN

Desde hace cuatro décadas el ^{99m}Tc es el radionúclido de elección para la preparación de una amplia variedad de radiofármacos debido a sus favorables características químicas y radioquímicas. En la presente comunicación se pretende mostrar los avances realizados en los últimos años en la utilización de los radiofármacos tecneciados presentando a título de ejemplos algunas sustancias marcadas con este radionúclido estudiadas con objeto de mejorar las propiedades de los radiofármacos ya conocidos o bien posibilitar la realización de nuevas exploraciones.

Para completar la panorámica actual se mencionan algunos radiofármacos de reciente aplicación en PET, así como los avances en radiofármacos terapéuticos con especial atención a las aplicaciones de los radionúclidos emisores alfa.

Palabras clave: Radiofármacos; ^{99m}Tc ; positrones; terapia; partículas beta; partículas alfa.

ABSTRACT

Radiopharmaceuticals: Current perspectives

For four decades ^{99m}Tc has been the radionuclide of choice for the preparation of a wide variety of radiopharmaceuticals, due to its favourable chemical and radiochemical profile. In the present communication, the aim is to show the progress made in recent years in the use of technetium radiopharmaceuticals, showing as examples some substances labelled with this radionuclide. Such substances were used to improve the properties of the known radiopharmaceuticals or for developing new explorations.

To complete the current overview, some recent radiopharmaceuticals with application to PET are mentioned, as well as advance in therapeutic

radiopharmaceuticals with special attention to the applications of alpha emitting radionuclides.

Keywords: Radiopharmaceuticals; positron; therapy; beta particles; alpha particles.

1. INTRODUCCIÓN

Es sabido que las propiedades químicas de un determinado elemento dependen de la corteza electrónica, siendo, por tanto, independientes de la composición nuclear. De ello se deduce que los distintos isótopos de un mismo elemento deben tener igual comportamiento químico. Las propiedades químicas de los compuestos vienen determinadas por su estructura molecular. Es posible introducir en la molécula algún átomo radiactivo sin alterar dichas propiedades, lo cual da como resultado la obtención de una sustancia cuyo comportamiento es análogo a la original, pero que resulta reconocible gracias a la radiación que emite: se dice que la sustancia se ha marcado. El átomo marcador puede ser un isótopo radiactivo de algún elemento constituyente de la molécula original (marcaje homólogo), o de un elemento distinto (marcaje heterólogo). Naturalmente, en este último caso, es indispensable que tal átomo ocupe en la molécula una posición que altere lo menos posible las propiedades de ésta.

Lo dicho anteriormente conduce al concepto de Radiofármaco. La definición de la Farmacopea Española (1) es:

“Cualquier producto medicinal que, cuando está preparado para su utilización, contenga uno o más radionucleidos (isótopos radiactivos) incluidos para un fin medicinal”.

El comportamiento biológico de la sustancia marcada debe ser tal que, ajustando convenientemente la dosis, y de acuerdo con la actividad utilizada, sea posible obtener desde efectos despreciables hasta otros muy marcados, tales como la destrucción más o menos selectiva de células. Ello nos lleva a establecer una clasificación de tales fármacos en dos categorías: diagnósticos y terapéuticos.

Los radiofármacos diagnósticos tienen por finalidad la exploración de algún órgano o sistema. La radiación emitida por el núclido marcador debe ser detectada externamente, por lo que ha de ser capaz de atravesar los tejidos sin producir efectos locales, lo cual exige a su vez que posean un alto poder penetrante y un bajo poder ionizante. Con ellos se obtienen imágenes morfológicas llamadas gammagrafías, o bien curvas actividad-tiempo, en las que pueden determinarse parámetros cinéticos relacionados con el estado funcional del órgano. Por tanto, los núclidos marcadores deberán ser emisores gamma o bien emisores de positrones. Es de desear que el radionúclido marcador tenga una vida lo más corta

posible, con objeto de evitar la irradiación prolongada del paciente, lo cual trae como consecuencia que su “fecha de caducidad” sea, en muchos casos, la del día siguiente e incluso la de pocas horas después de su obtención. Se impone, por tanto, la preparación extemporánea de las dosis que se vayan a utilizar cada día, lo cual exige disponer de “recetas” prácticas, que son consecuencia de un estudio previo, en el que se ha valorado la incidencia de múltiples factores fisicoquímicos.

2. ^{99m}Tc: ASPECTOS GENERALES

El Tecnecio 99 metastable (^{99m}Tc), es el radionúclido de elección para marcar una amplia variedad de sustancias, gracias a sus favorables propiedades químicas. Se produce naturalmente a partir del ⁹⁹Mo, de manera que los tiempos de semidesintegración de ambos son adecuados para que se establezca entre ellos un equilibrio transitorio. Tal situación se aprovecha en los generadores de Tecnecio, que básicamente consisten en una columna cromatográfica rellena de alúmina, sobre la cual se encuentran adsorbidos ambos radionúclidos, y de la que puede extraerse selectivamente el Tecnecio, por elución con disolución salina fisiológica. Como resultado se obtiene una disolución isotónica, apirógena y estéril de Pertecnetato sódico (^{99m}TcO₄Na). La fórmula de esta sustancia recuerda la del Permanganato (lo cual no es sorprendente, ya que el Tecnecio ocupa, en el sistema periódico, la casilla inmediatamente inferior al Manganeso) y ello nos indica que posee un elevado carácter oxidante con posibilidad de reducción del Tecnecio hasta diversos estados de oxidación, lo cual le hace apto para formar compuestos con sustancias muy diversas: HIDA, DMSA, DTPA, MAA, MAG3, ECD, etc.

3. ^{99m}Tc: PERSPECTIVAS ACTUALES

El ^{99m}Tc sigue dando lugar a la aparición de nuevos radiofármacos. A título de ejemplo, podemos mencionar:

3.1. ^{99m}Tc-rBitistatina: Un posible agente de marcaje plaquetario para la obtención de imágenes en trombos y embolias (2)

La Bitistatina recombinante (r Bitistatina) marcada con ^{99m}Tc es un radioligando para el receptor plaquetario $\alpha_{IIb}\beta_3$ (glicoproteínas IIb/IIIa), y está siendo desarrollado como un radiofármaco diagnóstico gammagráfico de trombos y embolias agudos. Antes de la primera administración de ^{99m}Tc-rBitistatina a sujetos humanos, su biodistribución y efectos en plaquetas fueron evaluados en animales. El radiofármaco fue administrado a ratones, cobayas y perros para estudiar la dependencia con el tiempo de su distribución orgánica, y las velocidades de excreción urinaria y aclaramiento sanguíneo. Los órganos que acumularon mayor cantidad del radiofármaco fueron los riñones, hígado y bazo en todas las especies animales y en humanos. Los órganos más visualizados en

imágenes humanas fueron los riñones y el bazo. La captación hepática fue más débil, y el fondo de tejidos blandos fue bajo. La ^{99m}Tc -rBitistatina se unió a las plaquetas circulantes en sangre, con un porcentaje más alto de enlace en cobayas y perros que en humanos. El enlace a proteínas plasmáticas fue bajo. La ruta principal de eliminación fue a través de la orina. La ^{99m}Tc -rBitistatina no afectó a los recuentos plaquetarios en humanos ni en perros.

3.2. Obtención de imágenes de melanoma humano (3)

El propósito de este estudio fue determinar si el péptido híbrido ^{99m}Tc -Arg-Gly-Asp (RGD) conjugado a la hormona estimulante de alfa-melanocito (α -MSH) dirigido a los receptores melanocortin-1 (MC1) y $\alpha_v\beta_3$ integrina fue superior en la captación del melanoma a ^{99m}Tc - α -MSH o péptido RGD dirigidos solamente al receptor MC1 o $\alpha_v\beta_3$ integrina.

Los RGD-Lys-(Arg¹¹)CCMSH, RAD-Lys-(Arg¹¹)CCMSH y RGD-Lys (Arg¹¹)CCMSH scramble fueron diseñados para dirigirlos frente a MC1 y $\alpha_v\beta_3$ integrina receptores, MC1 receptor solo y $\alpha_v\beta_3$ integrina receptor solo, respectivamente.

La captación por el melanoma de ^{99m}Tc -RGD-Lys-(Arg¹¹) CCMSH fue 2,49 y 2,24 veces ($P < .05$) más grande que la de ^{99m}Tc -RAD-Lys-(Arg¹¹) CCMSH y ^{99m}Tc -RGD-Lys-(Arg¹¹) CCMSH scramble a las 2 h de post-injection, respectivamente.

La dirección para ambos receptores de integrina, MC1 y $\alpha_v\beta_3$ aumentó la captación del melanoma humano para el ^{99m}Tc -RGD-Lys-(Arg¹¹)CCMSH. Los tumores de melanoma humano M21 fueron claramente visualizados por SPECT usando ^{99m}Tc -RGD-Lys-(Arg¹¹)CCMSH como trazador, aumentando su potencial uso para la detección del melanoma humano.

3.3. Preparación y evaluación preliminar de un derivado de $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -11 β -progesterona preparado mediante química "click" (4)

Los receptores de progesterona (PRs) sobreexpresados en los cánceres de mama sirven como potenciales dianas para desarrollar radiotrazadores utilizables en Medicina Nuclear. Por lo tanto, algunos derivados de la progesterona pueden ser vistos como potenciales vectores para señalar la sobreexpresión de receptores en el cáncer de mama. En el artículo, presentamos la preparación de un $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -progesterona triazol usando una ruta de "química click" catalizada con Cu(I). Se realizó una evaluación preliminar del derivado radiomarcado mediante estudios con líneas celulares MCF 7.

La 11-Hydroxyprogesterona se transformó sintéticamente en 11-azidoprogestero. Subsiguientemente, se llevó a cabo la reacción de cicloadición entre la azida de progesterona y propargil glicina para preparar un análogo de progesterona 1,4-bifuncionalizada triazol. Este derivado fue marcado con ^{99m}Tc y caracterizado por HPLC. La caracterización química del $^{99m}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -progesterona

triazol se realizó mediante la preparación de su correspondiente complejo con renio usando el precursor $[\text{NEt}_4]_2[\text{Re}(\text{CO})_3\text{Br}_3]$. Mientras los estudios *in vitro* se realizaron en líneas celulares MCF7, la distribución *in vivo* se estudió en ratas hembras.

El complejo radiomarcado pudo prepararse con una pureza radioquímica superior al 95%, como se determinó por HPLC. Estudios *in vitro* del complejo $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3$ -progesterona en líneas celulares MCF7 sobreexpresando receptores para el cáncer de mama demostraron un enlace superior al 30%. Los estudios de distribución *in vivo* en ratas hembras, mostraron una captación uterina de 0,41 (0,06) % ID/g a las 3 horas de postinyección (pi) y retención en él hasta las 24 h pi.

Este estudio señaló una nueva y fácil ruta para la preparación de complejos de $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -progesterone usando la “química click”. Esta estrategia se puede extender a la preparación de complejos radiomarcados de otros derivados esteroides.

3.4. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -metil-piperidinil cytectreno carboxylato en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer (5)

La enfermedad de Alzheimer (AD) es un desorden degenerativo neurológico que causa una progresiva e irreversible pérdida de conexiones entre las células cerebrales así como en las funciones mentales. Estudios clínicos y postmortem muestran que los cambios bioquímicos en cerebros de pacientes afectados de AD incluyen decrecimiento en la actividad acetilcolinesterasa (AChE).

Se estudió la actividad AChE usando piperidinil éster marcado con $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Los estudios *in vivo* e *in vitro* demostraron que el piperidinil ester marcado fue un sustrato para el AChE. Se midió la velocidad hidrolítica de este sustrato y la especificidad, que fue evaluada usando el inhibidor BW284c51. Los Renio análogos del sustrato marcado con tecnecio se usaron para determinar la constante de afinidad (Km) y la máxima velocidad de reacción (Vmax) a causa de la alta actividad específica del Tecnecio. La alta velocidad hidrolítica y buena especificidad del sustrato para AChE le hacen utilizable como un radiotrazador *in vivo* para estudiar la actividad AChE en el cerebro.

3.5. Investigación del marcaje de interleukina-2 recombinante humana con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ mediante hidrazinonicotinamida (6)

Se ha demostrado que la Interleukina-2 (IL-2) marcada $^{99\text{m}}\text{Tc}$ se puede usar para obtener imágenes del lugar de infiltración linfocítica en pacientes con desórdenes autoinmunes y juega un significativo papel como agente de imagen para células T. Sin embargo, los procedimientos de marcaje usados hasta ahora parecen ser más bien complejos y laboriosos. El objetivo del presente estudio fue desarrollar un procedimiento eficiente de marcaje con $^{99\text{m}}\text{Tc}$ para la interleukina-2 recombinante humana (rhIL-2) mediante hidrazinonicotinamida (HYNIC) para desarrollar una formulación en kit seco.

Varias relaciones molares de rhIL-2/HYNIC (de 1:2 a 1:12) se utilizaron en la etapa de conjugación. Generalmente, los rendimientos de marcaje más altos se alcanzaron cuando se usaron relaciones de sustitución de HYNIC-rhIL-2 conjugados de aproximadamente 2-4. El pH óptimo del medio de reacción se encontró en el intervalo de 6,5 a 7,0. Los análisis por GF-HPLC indicaron que durante el radiomarcaje se formaron el monómero y agregados de ^{99m}Tc -HYNIC-rhIL-2. En condiciones óptimas de humedad, el monómero ^{99m}Tc -HYNIC-rhIL-2 se obtuvo con una pureza radioquímica >99%, actividad específica de aproximadamente 4 GBq/mg rhIL-2 y rendimiento general de aproximadamente el 65%. El kit seco y refrigerado de dos viales se preparó como sigue: el primer vial con 30 μg HYNIC-rhIL-2, coligandos, tampón y antioxidante; el segundo vial con lo anterior y SnCl_2 . El monómero de ^{99m}Tc -HYNIC-rhIL-2 se obtuvo por cromatografía en gel en una columna PD-10. No se observaron entre IL2 marcado y no marcado diferencias en términos de actividad biológica.

Nuestro estudio demostró que la rhIL-2 puede ser eficientemente marcada con ^{99m}Tc mediante HYNIC, con tricina y NA como coligandos, usando un kit de dos viales refrigerado y desecado. Esto facilita la preparación de ^{99m}Tc -HYNIC(tricine,NA)-rhIL-2 estéril y listo para su uso en 1 h.

3.6. ^{99m}Tc -N-sulfanilamida ferroceno carboxamida (7)

Sintetizamos un derivado de la sulfanilamida marcado con ^{99m}Tc (^{99m}Tc -N-SFC), dirigido a infecciones en animales de laboratorio. La N-sulfanilamida ferroceno carboxamida (N-SFC) fue sintetizada químicamente y luego marcada con ^{99m}Tc . Se ha confirmado que es estable y se obtuvo con un rendimiento de marcaje superior al 87%. El análisis radioquímico del ^{99m}Tc -N-SFC reveló que la molécula fue marcada rápida y efectivamente (en 2 minutos) con una pequeña cantidad de pertecnetato en las preparaciones que contenían el compuesto purificado. Además, se realizaron estudios *in vitro*, y la estabilidad de la sustancia marcada en suero fue superior a las 24 h. La captación del trazador en bacterias vivas y muertas por el calor se comparó en condiciones fisiológicas y fue de aproximadamente 69% y 61,9% para cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Concluimos que la síntesis y marcaje del derivado de la sulfanilamida con ^{99m}Tc por este método es rápida, eficiente y segura. Estudios de biodistribución mostraron que nuestro compuesto radiactivo se acumula rápida y significativamente ($p < 0.05$) en los sitios de infección. La comparación de la acumulación de ^{99m}Tc -N-SFC en los sitios de animales infectados por *S. aureus-infected*, que se expresa como relación diana/no diana ($2,88 \pm 0.10$) con otros radiotrazadores también fue discutida (ver trabajo referencia 7).

3.7. Formulación de un kit para marcaje con ^{99m}Tc Affibody-anti-HER3 (8)

La imagen molecular de la expresión de receptor de factor humano de crecimiento epidémico tipo 2 en tumores malignos provee potencialmente información importante para el tratamiento. Las moléculas de Affibody han mostrado ser trazadores utilizables para aplicaciones en imágenes usando tomografía computarizada por emisión de fotón único (SPECT) o tomografía por emisión de positrones (PET). Los resultados de una evaluación anterior de la aplicación del marcaje con ^{99m}Tc en un sitio específico de la molécula de Affibody Z_{HER2:2395}-C, fueron favorables.

Como preparación para la aplicación clínica de este trazador, se ha desarrollado y evaluado un robusto kit refrigerado y desecado en vial único para el marcaje con ^{99m}Tc de la molécula Affibody Z_{HER2:2395}-C .

La composición del kit que contiene EDTA glucoheptonato y SnCl₂, así como la cantidad de proteína y el volumen de pertechnetato fueron optimizados para un alto rendimiento de marcaje (>90%) y mínima presencia de coloides de tecnecio reducido hidrolizado (<1%). La especificidad por los HER2 receptores, la competición por el enlace y la estabilidad en tampón fosfato salino y suero murino fueron verificadas *in vitro*. La semivida fue también evaluada *in vitro*, sin que hubiera reducción en el rendimiento de marcaje o capacidad de enlace a las células expresantes de HER2, después de 400 días de almacenamiento del kit de vial único refrigerado y desecado.

El Z_{HER2:2395}-C marcado con ^{99m}Tc usando el kit liofilizado fue estable y tuvo una favorable biodistribución con una evaluación *in vivo* en ratones normales del Naval Medical Research Institute.

3.8. Síntesis y evaluación biológica de un conjugado de sulfonamida marcado con ^{99m}Tc para la visualización *in vivo* de la expresión de anhidrasa carbónica IX en hipoxia tumoral (9)

La Anhidrasa Carbónica (CA) IX es una proteína transmembranal sobreexpresada en la mayoría de los tumores que ocurren asociados con hipoxia tumoral. Se sabe que las sulfonamidas y sus bioisómeros inhiben la actividad de CA IX.

El ^{99m}Tc -benceno sulfonamida y su análogo de renio fueron sintetizados y caracterizados. Estudios *in vitro* demostraron que el compuesto de renio tiene una alta afinidad por la CA IX e inhibe efectivamente la actividad de CA IX.

Estudios *in vivo*, revelaron una acumulación limitada del trazador en un tumor expresante de CA IX pero con aumento de la relación de actividad en sangre en función del tiempo.

3.9. Síntesis y evaluación de un péptido citotóxico conjugado a la bombesina con ^{99m}Tc dirigido a tumores expresantes de receptores de bombesina (10)

La conjugación de los fármacos citotóxicos a péptidos receptor-enlazantes es una aproximación atractiva para la liberación dirigida de los péptidos citotóxicos conjugados en las células tumorales. En un intento de desarrollar un radiofármaco eficiente basado en péptidos y dirigido a tumores expresantes de receptores de bombesina (BN), (i.e. mama y próstata), hemos preparado por síntesis de péptidos en fase sólida, un nuevo análogo de BN derivado de la secuencia universal de BN y conjugado a un agente antineoplásico perfectamente caracterizado, el metrotexato (MTX). MTX-BN, después de radiomarcaje con ^{99m}Tc .

El radioconjugado mostró una significativa localización (valores comprendidos entre 19–35%) dentro de las células tumorales de cáncer de mama MDA-MB-231, MCF-7, T47-D y cáncer de próstata PC-3. La captación tumoral fue siempre mayor que en sangre y músculo, con buena retención en el tumor y buenas relaciones tumor/sangre y tumor/músculo.

Este estudio inicial hacia el desarrollo de un nuevo citotóxico BN conjugado sugiere que la combinación de propiedades favorables *in vitro* e *in vivo* puede convertir al ^{99m}Tc -MTX-BN en un candidato potencial como agente de imagen dirigida y eventualmente, como radionúclido terapia (cuando se marca con un apropiado radionúclido) de tumores BN receptor-positivos y merece posterior evaluación. Sin embargo, la captación/retención en los riñones fue más bien alta (más de $11,05 \pm 1,80\%$ ID/g), lo cual es un inconveniente particularmente para radionúclido terapia.

3.10. Evaluación de ^{99m}Tc -glucarato en cáncer de mama (11)

El uso de ^{99m}Tc -Glucarato ha sido relatado como un agente potencial para la detección muy precoz del infarto de miocardio. El ^{99m}Tc -Glucarato ha sido también postulado como un agente para detección no invasiva de tumores. El objetivo del estudio (11) fue desarrollar un kit de Glucarato y evaluar el ^{99m}Tc -Glucarato como un potencial agente de imagen en tumores de mama.

Los kits de Glucarato mostraron una vida útil de 6 meses. El ^{99m}Tc -Glucarato fue obtenido con pureza radioquímica superior al 95%. Estudios de biodistribución, demostraron una moderada captación tumoral unida a un alto aclaramiento renal. Los cocientes tumor/músculo fueron 4,85 y 5,14 en 1 y 4 h de post inyección. La captación de ^{99m}Tc -Glucarato en los tumores primarios MDA-MB-435 y lesiones metastásicas fueron claramente visualizadas con micro-SPECT/CT imagen.

La captación selectiva por el tumor y el rápido aclaramiento desde los órganos no diana hacen del ^{99m}Tc -Glucarato un agente potencial para imagen en cáncer de mama, que espera su validación en un estudio clínico.

3.11. Nanopartículas de oro marcadas con ^{99m}Tc para la detección del ganglio centinela (12)

Se define como ganglio centinela al primer ganglio de una cadena linfática que drena un territorio tisular determinado, de manera que, antes de proseguir su camino por la cadena, toda la linfa proveniente de dicho territorio debe pasar primero por el ganglio centinela.

Dicho concepto es de gran trascendencia en el campo de la oncología. De la misma manera que la linfa de un territorio determinado debe progresar escalonadamente por los ganglios de una cadena linfática, las células tumorales que pudieran desprenderse de este mismo territorio, cuando es neoplásico, deberán circular escalonadamente por los ganglios de la cadena, siendo el primero de ellos el centinela.

Así pues, se puede decir que el status del ganglio centinela en cuanto a su invasión o no por células neoplásicas, puede traducir con una elevada exactitud el status del resto de la cadena.

El objetivo del trabajo (12) fue preparar un sistema multifuncional de nanopartículas de oro conjugadas a HYNIC-GGC/manosa, marcadas con ^{99m}Tc y evaluar su comportamiento biológico como un potencial radiofármaco para detección del ganglio centinela (SLND).

Se sintetizaron el péptido Hidrazinonicotinamida-Gly-Gly-Cys-NH₂ (HYNIC-GGC) y un derivado tiol-triazol-manosa, se caracterizaron y fueron conjugados a nanopartículas de oro (AuNP, 20 nm) para preparar un sistema multifuncional de HYNIC-GGC-AuNP-manosa. El marcaje con ^{99m}Tc fue realizado usando EDDA/tricina como coligandos y SnCl₂ como agente reductor, con posterior purificación por cromatografía de exclusión.

Los radiocromatogramas mostraron una pureza radioquímica superior al 95%. El ^{99m}Tc-AuNP-manosa mostró reconocimiento específico para los receptores de manosa en tejido de hígado de rata. Tras administración subcutánea de ^{99m}Tc-AuNP-manosa en ratas, se obtuvo el 99% de actividad por el primer ganglio. Estudios de biodistribución mostraron una evidente captación por el ganglio (11,58±1,98 %ID at 1 h) que fue retenida durante 24 h con mínima acumulación renal (0,98±0,10 %ID) y captación despreciable en todos los otros tejidos, lo que indica que la ^{99m}Tc-AuNP-manosa puede usarse como una diana-específica radionanoconjugada para el SLND, usando los protocolos convencionales de “1-día” o “2-días”.

3.12. Conjugados de Folato marcados con ^{99m}Tc para folato receptor imagen (13)

El Receptor de Folato (FR) es una potencial diana molecular para imagen por radionúclido puesto que es sobreexpresado en muchos tumores humanos de células epiteliales.

Nosotros, sintetizamos y caracterizamos un nuevo folato conjugado, HYNIC-NHHN-FA (13). Este conjugado fue radiomarcado con ^{99m}Tc usando tricina, tricina /difenilfosfinobenceno-3-sulfónico ácido sodio (TPPMS) y tricina /trisodio trifenilfosfina-3,3',3''-trisulfonato (TPPTS) como coligandos, respectivamente. Los complejos fueron purificados por HPLC. Se realizaron evaluaciones *in vitro* e *in vivo* con FR células positivas KB, ratones normal Kunming y ratones atómicos portadores de tumores KB.

El marcaje con ^{99m}Tc usando diferentes coligandos, dio lugar a tres complejos: ^{99m}Tc (HYNIC-NHHN-FA)(tricina), **5**, ^{99m}Tc (HYNIC-NHHN-FA)(tricina/TPPMS), **6** y ^{99m}Tc (HYNIC-NHHN-FA)(tricina/TPPTS), **7**. El complejo **5**, mostró al menos dos isómeros y resultó inestable después de ser purificado por HPLC. Los complejos **6** y **7** mostraron alta estabilidad y similar afinidad para FR *in vitro*. Los resultados de biodistribución demostraron que el complejo **7** tiene una alta captación en tumores FR-positivos ($9,79 \pm 1,66\%$ ID/g a 4 h postinyección). Sin embargo, el complejo **6** mostró una baja captación tumoral debida a su lenta excreción por tracto gastrointestinal.

La modificación de los coligandos puede alterar significativamente las propiedades farmacocinéticas de los complejos ^{99m}Tc -HYNIC. ^{99m}Tc (HYNIC-NHHN-FA)(tricina/TPPTS), pero puede ser un prometedor radiotrazador para imagen de FR.

3.13. ^{99m}Tc -Derivado del Ácido Zoledrónico (14)

Para posibilitar la obtención de imágenes más precoces a un tiempo más temprano tras la inyección, se preparó un radiofármaco con más alta afinidad por el hueso, mayor cociente tejido óseo/tejidos blandos y más rápido aclaramiento sanguíneo. Obtuvimos un nuevo derivado del ácido Zoledrónico, el 1-hidroxi-3-(1H-imidazol-1-il)propano-1,1-diildifosfónico ácido (IPrDP), que fue marcado con ^{99m}Tc con un alto rendimiento de marcaje.

En los estudios de biodistribución, el ^{99m}Tc -IPrDP exhibe ventajas significativas en la resorción ósea y aclaramiento de tejidos blandos comparado con ^{99m}Tc -ZL. La cinética del aclaramiento sanguíneo en ratón mostró que $t_{1/2\alpha}$ y $t_{1/2\beta}$ de ^{99m}Tc -IPrDP fueron de 1,47 min y 46,47 min, mientras que los de ^{99m}Tc -ZL fueron de 2,28 y 52,63 min respectivamente. Se pueden obtener rápidamente excelentes imágenes del esqueleto del conejo por ^{99m}Tc -IPrDP, que fue más rápido

que el $^{99m}\text{Tc-ZL}$ y que el agente $^{99m}\text{Tc-MDP}$ (tecnecio-99m marcado con metilendifosfonato).

Por tanto, se puede concluir que el $^{99m}\text{Tc-IPrDP}$ posee excelentes características para potencial aplicación como un nuevo agente de exploración ósea.

4. TOMOGRAFÍA POR EMISIÓN DE POSITRONES (PET)

El radiofármaco más utilizado en PET hasta la fecha es la $^{18}\text{F-FDG}$ (18-Flúor-Desoxi Glucosa). Entre los numerosos estudios actuales para la obtención de nuevos radiofármacos PET citaremos el siguiente:

$^{77}\text{Br-BAMT}$: Una alternativa a $^{18}\text{F-FAMT}$ (15)

En este estudio, el $^{76}\text{Br-bromo-}\alpha\text{-metil-tirosina}$ ($^{76}\text{Br-BAMT}$) fue evaluado como un nuevo trazador para la obtención de imágenes de tumores malignos en PET.

Se prepararon $^{76}\text{Br-BAMT}$ y $^{77}\text{Br-BAMT}$. La estabilidad *in vitro* del $^{77}\text{Br-BAMT}$ se evaluó por HPLC. La captación celular y retención de ambos se evaluaron usando células de adenocarcinoma de colon LS180. Los estudios de biodistribución fueron realizados en ratones normales y portadoras de tumores LS180.

La retención y las acumulaciones celular y tumoral del $^{77}\text{Br-BAMT}$ fueron más altas que las de $^{18}\text{F-FAMT}$. Sin embargo, se observó algún nivel de desbromación que causó mayor retención de radiactividad en sangre y órganos que la observada con $^{18}\text{F-FAMT}$.

5. RADIOFÁRMACOS TERAPÉUTICOS: EMISORES BETA

5.1. Tratamiento del linfoma no Hodgkin con ^{90}Y ibritumomab tiuxetan (16)

Hace más de 20 años que fue introducido el término radioinmunoterapia (RIT) o terapia contra el cáncer utilizando anticuerpos radiomarcados, pero ha sido en los últimos años cuando ha experimentado el mayor interés, fundamentalmente en su aplicación en patologías malignas como el linfoma no Hodgkin.

La radioinmunoterapia está influida por tres factores principales interrelacionados: el anticuerpo, el radionúclido y el tumor diana. Básicamente, las estrategias que deben diseñarse para potenciar la radioinmunoterapia pueden agruparse en cuatro puntos:

1. Mejorar la captación y distribución de los anticuerpos radiomarcados mediante incremento del flujo y permeabilidad vascular en el tumor,

usando moléculas más pequeñas, y posiblemente potenciando estrategias "pretargeting".

2. Disminuyendo los anticuerpos no diana en el flujo sanguíneo mediante aclaramiento "in vivo" o por mecanismos de absorción "ex vivo".
3. Protegiendo los órganos normales de la radiotoxicidad, empleando factores de crecimiento hematopoyético, reponiendo las poblaciones celulares en sangre periférica y mediante bloqueo de la reabsorción de fragmentos de anticuerpos en los riñones con aminoácidos catiónicos, aminoazúcares y sus polímeros.
4. Disminuyendo la inmunogenicidad de las inmunoglobulinas, utilizando anticuerpos humanos.

Los anticuerpos monoclonales anti-CD20 marcados con ^{90}Y son unos nuevos agentes radioinmunoterápicos que se están investigando para el tratamiento del linfoma no Hodkin (NHL) y otras enfermedades hematológicas. La Unidad de Radiofarmacia del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Clínico Universitario de Valencia participa en un ensayo clínico prospectivo, multicéntrico, randomizado de fase III sobre el ^{90}Y ibritumomab tiuxetan, un nuevo agente radioinmunoterapéutico recientemente aprobado para el tratamiento de linfomas no Hodkin (NHL), consistente en un anticuerpo monoclonal de ratón unido covalentemente a un quelante de metales que produce complejos estables con ^{111}In para imagen e ^{90}Y para terapia. Usando los criterios de la International Workshop para NHL, el ^{90}Y ibritumomab tiuxetan ha producido respuestas del 74%-83% en pacientes con recidivas o resistentes de bajo grado, incluyendo una tasa de respuesta imprevista del 83% en un ensayo clínico realizado en pacientes para los que un tratamiento anterior con rituximab había fallado.

El ^{90}Y es un emisor beta puro con un período de semidesintegración de 64 horas que por desintegración se transforma en Zr. Tiene una alta energía beta y un recorrido efectivo de 5,3 mm² que corresponde a 100-200 diámetros celulares, dando un amplio efecto de "fuego cruzado" cuando se conjuga con un anticuerpo monoclonal tal como el ibritumomab. Se postula que este efecto aumenta la destrucción tumoral más que los anticuerpos no marcados por irradiación de las células tumorales no unidas al anticuerpo, y puede ser particularmente beneficioso en pacientes con tumores voluminosos o pobremente vascularizados.

Se determinó el índice terapéutico (cociente entre la radiación absorbida por las células cancerosas y las normales). Se usó una dosis trazadora de ibritumomab marcado con ^{111}In , que emite radiación gamma, como agente de imagen para medir la acumulación en órgano, específica en cada paciente.

La radioinmunoterapia con ^{90}Y combina las ventajas en cuanto a especificidad del anticuerpo monoclonal con la eficacia de la radiación en el tratamiento de NHL, una enfermedad hematológica altamente radiosensible. Puesto que el ^{90}Y es un emisor beta puro, las precauciones en cuanto a protección de los pacientes y el personal sanitario después de la administración son mínimas. Asimismo, el tratamiento puede ser aplicado sin perturbar los hábitos diarios de los pacientes.

5.2. $^{177}\text{Lu-PR81}$ (17)

El PR81 es un anticuerpo monoclonal que enlaza con alta afinidad al antígeno MUC1, que está sobreexpresado en el 80% de los cánceres de mama.

Se desarrolló un método (17) para marcaje indirecto del PR81 con ^{177}Lu , obteniéndose un complejo con alta pureza radioquímica y estabilidad.

Resultaron satisfactorias la inmunoreactividad y citotoxicidad del complejo estudiadas en células MCF7. Los estudios de biodistribución y escintigrafía, mostraron la acumulación del complejo en el tumor con alta sensibilidad y especificidad.

Los resultados demuestran que el $^{177}\text{Lu-PR81}$ es un potencial radiofármaco para la radioinmunoterapia del cáncer de mama.

5.3. ^{161}Tb : Una alternativa al ^{177}Lu (18)

El emisor de baja energía beta ^{161}Tb es muy similar al ^{177}Lu con respecto a la vida media, energía beta y propiedades químicas.

El ^{161}Tb emite una significativa cantidad de electrones de conversión y Auger. Por tanto, cabe esperar un efecto terapéutico mayor en comparación con el ^{177}Lu . También emite fotones de baja energía que son utilizables para obtención de imagen.

Se utilizó la ruta $^{160}\text{Gd}(n,\gamma)^{161}\text{Gd}\rightarrow^{161}\text{Tb}$ para producir ^{161}Tb , que fue utilizado para marcar el DOTA-Tir-octreotato.

El ^{161}Tb libre de portador puede obtenerse por este método en la cantidad y calidad requeridas para la preparación de agentes terapéuticos marcados con ^{161}Tb .

5.4. $^{188}\text{Re-DXR}$ Liposomas (19)

El efecto antitumoral del $^{188}\text{Re-DXR}$ -liposoma fue seguido en ratones portadores de tumores C26 murinos por la inhibición del crecimiento tumoral, cociente de supervivencia y tinción histopatológica hematoxilina-eosina.

Los ratones tratados con $^{188}\text{Re-DXR}$ -liposomas mostraron mejor media de inhibición de crecimiento tumoral (MGI) y mayor tiempo de supervivencia

(MGI=0,048; 74 días) que los tratados con radioterapia de ^{188}Re -liposoma (MGI=0,134; 60 días) y quimioterapia de Lipo-Dox (MGI=0,413; 38 días). El efecto sinérgico de regresión tumoral fue observado con un índice de combinación (CI) mayor que 1 (CI=1.145) para la terapia de co-liberación de ^{188}Re -DXR-liposoma.

6. RADIOFÁRMACOS TERAPÉUTICOS: EMISORES ALFA

La radioinmunoterapia ha probado ser clínicamente efectiva en pacientes con linfoma no Hodgkin. Los ensayos radioinmunoterápicos realizados hasta la fecha se han realizado con isótopos emisores beta. En contraste con esto, la penetración más corta y la mayor transferencia lineal de energía (LET) de las partículas alfa permiten una destrucción de las células tumorales más eficiente y selectiva. Sin embargo, hay varios obstáculos para el uso de la inmunoterapia con partículas alfa, que incluyen problemas con la química de la quelación y toxicidad para los tejidos

6.1. Compuestos de ^{225}Ra y ^{225}Ac (20)

Los radionúclidos emisores alfa son potencialmente útiles para la terapia de enfermedades localizadas debido a su alto poder ionizante y su corta penetración. Los radiometales que se localizan naturalmente en el hueso pueden ser utilizados para este propósito, y el ^{223}Ra ($t_{1/2}$ =11.4 días) ha sido estudiado para la terapia de tumores óseos en ratones y ratas. El ^{225}Ac ($t_{1/2}$ =10 días) es también un radioisótopo atractivo para la endoradioterapia. En una simple desintegración del núcleo de ^{225}Ac y sus subsiguientes núclidos hijos, se liberan alrededor de 27 MeV (90% de la energía total) por emisión secuencial de cuatro partículas alfa de energías comprendidas entre 5,7 y 8,4 MeV. Aunque el Ac^{3+} no se une naturalmente al hueso, su núclido padre, el ^{225}Ra puede usarse como una fuente *in vivo* para el ^{225}Ac . Por tanto, la inyección de ^{225}Ra presenta ventajas en las propiedades de localización ósea relacionadas con la significativa cantidad de energía liberada en la cadena de desintegración del ^{225}Ac . Nuestros datos, confirman que una amplia fracción de citrato de radio inyectado intravenosamente en ratones se localiza rápidamente en hueso. Las dosis inyectadas por gramo (ID/g) para el ^{225}Ra varían desde el 25% en cráneo hasta aproximadamente el 10% en esternón. Una vez depositado, el ^{225}Ra permanece en el hueso con una vida media biológica superior a 40 días. Además, más del 95% del radioisótopo hijo, ^{225}Ac , es retenido en el hueso. Sin embargo, una fracción significativa de uno de los radioisótopos hijos, el ^{213}Bi , se ha encontrado en riñón. Los datos de biodistribución indican que la inyección de ^{225}Ra debe ser un poderoso agente para producir la muerte de células asociadas con el hueso; sin embargo, la toxicidad de este radioisótopo, que es similar a la de otros emisores alfa, limita la dosis que puede ser tolerada.

6.2. ^{213}Bi en adenocarcinoma pancreático (21)

Los estudios clínicos en terapéutica del cáncer en pacientes tratados con receptores de somatostatina DOTA0 - Tyr3 octreótido (DOTATOC) marcados con el emisor beta ^{177}Lu han mostrado tasas de respuesta en la gama de 15-33%. Con el fin de mejorar los resultados, se ha tratado de comparar su eficacia terapéutica con la de DOTATOC marcado con ^{213}Bi (emisor alfa) mediante la determinación de la eficacia biológica relativa (RBE) usando el emisor gamma ^{137}Cs como referencia para la detección de radiación.

Se utilizaron células de adenocarcinoma pancreático humano Capan-2 y células A549 como control para este estudio. Los efectos de diferentes dosis de radiación de ^{213}Bi y ^{177}Lu unidos a 1,4,7,10-tetraazaciclododecano-1,4,7,10-ácido tetraacético y DOTATOC se investigaron en un ensayo de supervivencia celular. La apoptosis se midió usando el Cell Death Detection ELISA^{PLUS} 10× kit, mediante tratamiento equimolar con DOTATOC usando una fuente de ^{137}Cs como radiación de referencia; la RBE calculada de [^{213}Bi]DOTATOC fue de 3,4, frente a 1,0 para [^{177}Lu]DOTATOC. Como se midió en términos de unidades de absorbancia, se concluye que el [^{213}Bi]DOTATOC causó una liberación de mononucleosomas y oligonucleosomas específicos de apoptosis 2,3 veces mayor que el [^{177}Lu]DOTATOC, al final del tiempo de tratamiento.

En conclusión, para la misma dosis absorbida, [^{213}Bi]DOTATOC es terapéuticamente más efectivo en el decrecimiento de la supervivencia que el [^{177}Lu]DOTATOC en células de adenocarcinoma pancreático humano, debido a su comparativamente más alta RBE.

6.3. Compuestos de ^{227}Th (22)

El radioinmunoconjugado marcado con el emisor alfa ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab es un nuevo agente potencialmente anti-linfoma que puede resolver algunas dificultades. El estudio (22) explora la inmunoreactividad, estabilidad *in vivo* y biodistribución, así como el efecto sobre el crecimiento celular *in vitro* de este nuevo radioinmunoconjugado. Para evaluar la estabilidad *in vivo* se comparó la captación en ratones del núclido emisor alfa ^{227}Th , su forma quelada, ^{227}Th -*p*-nitrobencil-DOTA y el radioinmunoconjugado ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab, en diferentes órganos a tiempos crecientes post inyección. La fracción inmunoreactiva de ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab fue del 56–65% Durante los 28 días siguientes a la inyección del radioinmunoconjugado solo muy pequeñas cantidades del ^{227}Th se habían separado del DOTA-*p*-bencil-rituximab, indicando una relevante estabilidad *in vivo*. La vida media del ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab en sangre fue de 7,4 días. La incubación de células de linfoma con ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab resultó en una significativa inhibición del crecimiento celular

antígeno-dependiente. Los datos presentados aquí requieren posteriores estudios del ^{227}Th -DOTA-*p*-bencil-rituximab.

6.4. ^{212}Bi en la radioinmunoterapia predirigida (23)

Predirección es el concepto que combina la óptima liberación del anticuerpo con la rápida captura y eliminación de la radiactividad. Se ha evaluado (23) el potencial del marcaje de anticuerpo *predirector* en la capacitación del marcador tumoral ^{212}Pb a fin de generar *in vivo* ^{212}Bi para radioterapia con partículas alfa.

El quelato $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{Bi}$ DOTA-biotina, así como sus análogos emisores gamma ^{203}Pb and ^{205}Bi fue preparado y caracterizado. Los compuestos radiomarcados fueron inyectados en animales para evaluación del marcaje tumoral, captación y retención tisulares. En el protocolo de premarcaje, se administra una inyección de 400 μg de NR-LU-10 anticuerpo-estreptavidina conjugado a $t=0$ h; posteriormente 100 μg de agente aclarante *N*-acetilgalatosamina-biotina se inyecta a $t=20-24$ h y finalmente se inyecta 1 μg de $^{212}\text{Pb}/^{212}\text{Bi}$ -DOTA-biotina, 6 h más tarde.

Tanto el ^{203}Pb como la ^{205}Bi -DOTA-biotina fueron estables por lo menos 4 días, en las diferentes soluciones, incluyendo PBS, 10 mM DTPA y suero. Contrariamente a sus análogos emisores gamma, el ^{212}Pb -DOTA-biotina radiomarcado fue inestable. Hubo una liberación superior al 30% de ^{212}Bi libre a las 4 h después del ^{212}Pb -marcado DOTA-biotina. Los resultados de ^{203}Pb y ^{205}Bi -DOTA-biotina mostraron que el marcaje tumoral alcanzó el 20% de la dosis inyectada (ID)/g a las 4 h de postinyección y se mantuvo alta durante 5 días. El tanto por ciento de ID/g en la sangre total y otros órganos no marcados fue bajo después de la administración de ^{203}Pb marcado y ^{205}Bi -DOTA-biotina, similar a la biodistribución de DOTA-biotina marcado solo. En los animales a los que se administró ^{212}Pb -DOTA-biotina, la radiactividad en órganos no marcados fue baja excepto en los riñones. La %ID/g en el riñón para ^{212}Bi fue 14,5 a las 2 h, más alta que el ^{212}Pb , pero disminuyó a aproximadamente el 6% ID/g en 4 h. Sin embargo, la captación tumoral para ^{212}Pb y ^{212}Bi fue >25% ID/g 1 h después de la postinyección y permaneció así a lo largo de 24 h.

6.5. Compuestos de ^{211}At (24)

Se ha obtenido una mejora significativa en la estabilidad *in vivo* de los radioinmunoconjugados marcados con ^{211}At utilizando un nuevo compuesto, el succinimidil *N*-2-(4-[^{211}At]astatofenil)succinamato (SAPS) (Compuesto 1). Se encontró que este compuesto se degradaba en 6 meses por almacenamiento a -15 $^{\circ}\text{C}$, por una reacción de ciclación formándose el *N*-2-(4-tributylestannilfenil)succinimida (Compuesto 3) y se desarrolló un procedimiento modificado para la preparación de 1. El análogo estructural *N*-metil de 1, succinimidil *N*-2-(4-tributylestannilfenil)-*N*-metil succinamato (SPEMS) fue sintetizado para

investigar la posibilidad de mejorar la estabilidad de 1. El marcaje de SPEMS con ^{211}At genera succinimidil *N*-2-(4-[^{211}At]astatofenetil)-*N*-metiyl succinamato (Methyl-SAPS), que es estable durante más de un año. El radiomarcaje de 1 y SPEMS con ^{125}I generó succinimidil *N*-2-(4-[^{125}I]iodofenetil)succinamato (SIPS) y succinimidil *N*-2-(4-[^{125}I] iodofenetil)-*N*-metil succinamato (Metil-SIPS), respectivamente, y mostró un rendimiento similar. El Metil-SAPS, SAPS, Metil-SIPS y SIPS fueron conjugados a Herceptina para un estudio comparativo en ratones. Los conjugados de Herceptina con Metil-SAPS o Metil-SIPS mostraron inmunoreactividad equivalente, si no superior, a los análogos SAPS y SIPS. Los estudios *in vivo* revelaron que la modificación *N*-metil dio como resultado un comportamiento superior del producto.

El sistema Anticuerpo predirigido con Mab-streptavidina, agente aclarante y DOTA-biotina provee el potencial de ^{212}Bi para radioterapia de tumores sólidos a pesar de la liberación de ^{212}Bi después de la desintegración del ^{212}Pb . Los cálculos dosimétricos dieron como resultado dosis tumorales de 93 rad/ μCi y relaciones tumor/médula y riñón de 386:1 y 12:1, respectivamente.

7. REFERENCIAS

1. Farmacopea Española.
2. Knight, L.C., Romano, J.E., Bright, L.T., Agelan., Cantor, S., Maurer, A.H. (2007). Platelet binding and biodistribution of [$^{99\text{m}}\text{Tc}$] rBitistatin in animal species and humans. *Nuc Med Biol*, 34(7), 855-863.
3. Jianquan, Y., Haixun, G., Yubin, M (2010). Technetium-99m-labeled Arg-Gly- Asp-conjugated alpha melanocyte stimulating hormone hybrid peptides for human melanoma imaging. *Nuc Med Biol*, 37(8), 873-883.
4. Dhyani, M.V., Satpati, D., Korde, A., Sarma, H.D., Kumar, C., Banerjee, S. (2010) Preparation and preliminary bioevaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc}(\text{CO})_3\text{-}11\beta$ -progesterone derivative prepared via click chemistry route. *Nuc Med Biol*, 37(8), 997-1004.
5. Mejri, N., Barhoumi, C., Trabelsi, M., Makni, A., Said, N.M. (2010) A 1-methyl-4-piperidinyl cyctetrene carboxylate labeled by the technetium $^{99\text{m}}$, aradiotracer for rat brain. *Nuc Med Biol*, 37(2), 143-148.
6. Karczmarczyk, U., Garnuszek, P., Maurin, P.M., Di Gialleonardo, V., Galli, F. Signore, A., Mikołajczak, R.(2010). Investigation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelling of recombinant human interleukin-2 via hydrazinonicotinamide. *Nuc Med Biol*, 37(7), 795-803.
7. Essouissi, I, Ghali, W., Saieda, N.M., Saidi, M. (2010). Synthesis and evaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -*N*-sulfanilamide ferrocene carboxamide as bacterial infections detector. *Nuc Med Biol*, 37(7), 821-829.
8. Ahlgren, S., Andersson, K., Tolmachev, V.(2010). Kit formulation for $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeling of recombinant anti-HER2 Affibody molecules with a C-terminally engineered cysteine. *Nuc Med Biol*, 37(5), 539-546.
9. Akurathi, V., Dubois, L., Lieuwes, N.G. Chitneni, S.K., Cleynhens, B.J., Vullo, D. et al (2010). Synthesis and biological evaluation of a $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled sulfonamide conjugate for *in vivo* visualization of carbonic anhydrase IX expression in tumor hypoxia. *Nuc Med Biol*, 37(5), 557-564.

10. Okarvi, s.M, Al Jammaza, I. (2010). Synthesis and evaluation of a technetium-99m labeled cytotoxic bombesin peptide conjugate for targeting bombesin receptor-expressing tumors. *Nuc Med Biol*, 37(3), 277-288.
11. Gambini, J.P., Cabral, P., Alonso, O., Savio, E., Figueroa, S.D., Zhang, X.et al. (2011). Evaluation of ^{99m}Tc-glucarate as a breast cancer imaging agent in a xenograft animal model. *Nuc Med Biol* 38(2) 255-60.
12. Ocampo-García, B.E., Ramirez F. de M., Ferro-Flores, G.et al. (2011). ^{99m}Tc-labelled gold nanoparticles capped with HYNIC-peptide/mannose for sentinel lymph node detection. *Nuc Med Biol*, 38(1), 1-11.
13. Lua, J., Panga, Y., Xie, F. et al.(2011). Synthesis and in vitro/in vivo evaluation of ^{99m}Tc-labeled folate conjugates for folate receptor imaging. *Nuc Med Biol*, 38(4), 557-565.
14. Jianguo, L., Ling, Q., Wen, Ch., Shiening, L., Wanzhong, Y.(2011). Preparation and in vivo biological investigations on a novel radioligand for bone scanning: technetium-99m-labeled zoledronic acid derivative. *Nuc Med Biol* 38(5), 619-629.
15. Ohshima, Y., Hanaoka, H., Watanabe, S., Sugo, Y., Watanabe, S., Tominaga, H. et al. (2011). Preparation and biological evaluation of 3-[⁷⁶Br]bromo- α -methyl-L- tyrosine, a novel tyrosine analog for positron emission tomography imaging of tumors. *Nuc Med Biol* ,38:(6), 857-865.
16. Wagner, H.N., Wiseman, G.A., Marcus, C.S. et al. (2002). Administration Guidelines for Radioimmunotherapy of Non-Hodkin's Lymphoma with ⁹⁰Y-Labeled Anti- CD20 Monoclonal Antibody. *J. Nucl.Med* 43(2), 267-272.
17. Salouti, M., Babaei, M.H., Rajabi, H., Rasaei, M. (2011). Preparation and biological evaluation of ¹⁷⁷Lu conjugated PR81 for radioimmunotherapy of breast cancer. *Nuc Med Biol* 38(6), 849-855.
18. Lehenberger, S., Barkhausen, C., Cohrs, S., Fischer, E., Grünberg, J., Hohn, A. et al. (2011). The low-energy β^- and electron emitter ¹⁶¹Tb as an alternative to ¹⁷⁷Lu for targeted radionuclide therapy. *Nuc Med Biol* , 38(6), 917-924.
19. Ya-Jen Changa, I, Chih-Hsien Changa, I, Chia-Yu Yua, Tsui-Jung Changa, Liang-Cheng Chena, Min-Hua Chenb et al (2010). Therapeutic efficacy and microSPECT/CT imaging of ¹⁸⁸Re-DXR-liposome in a C26 murine colon carcinoma solid tumor model. *Nuc Med Biol* 37(1), 95-104.
20. Kennel, S.J., Lankford, T., Garland, M., Sundberg, J.P., Mirzadeh, S. (2005). Biodistribution of ²²⁵Ra citrate in mice: retention of daughter radioisotopes in bone. *Nuc Med Biol*,32(8), 859-867.
21. Nayak, T.K., Norenberg, J.P., Anderson, T.L., Prossnitz, E.R., Stabin, M.G., Atcher, R.W. (2007). Somatostatin-receptor-targeted α -emitting ²¹³Bi is therapeutically more effective than β^- -emitting ¹⁷⁷Lu in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Nuc Med Biol* 34(2), 185-193.
22. Dahle, J., Borrebæk, J., Melhus, K.B., Bruland, Ø. S, Salberg, G., Olsen, D.R. et al. (2006). Initial evaluation of ²²⁷Th-*p*-benzyl-DOTA-rituximab for low-dose rate α -particle radioimmunotherapy *Nuc Med Biol* 33(2), 271—279.
23. Su, F-M, Beaumier, P., Axworthy, D., Atcher, R., Fritzberg A. (2005). Pretargeted radioimmunotherapy in tumored mice using an in vivo ²¹²Pb/²¹²Bi generator. *Nuc Med Biol* 32(7), 741-747.
24. Talanov, V.S., Garmestani, K., Regino, C.A.S., Milenic, D.E., Plascjak, P.S., Waldmann, T.A. et al. (2006). Preparation and in vivo evaluation of a novel stabilized linker for ²¹¹At labeling of protein. *Nuc Med Biol*, 33(4), 469-480.